TRYPANOSOMA LAMBRECHTI N. SP. AISLADO DE MICOS *(CEBUS ALBIFRONS)* DE COLOMBIA [1]

Por
C. J. MARINKELLE

Universidad de Los Andes, Bogotá, Colombia.
(Departamentos Biología y Microbiología).

Introducción:

Los tripanosomas de micos han sido estudiados por numerosos investigadores (11). La totalidad de las 16 especies de tripanosomas descritas en primates, pueden ser divididas en dos grupos; aquellos morfológicamente semejantes al complejo *Trypanosoma cruzi* y los semejantes al complejo *T. rangeli* (10). En el género *Cebus* se han observado los siguientes tripanosomas: *T. cebus* (5-8), *T. ariari* [2] (9), *T. diasi* (3), *T. minasense*, *T. rangeli* y *T. cruzi* (4, 11) y varios tripanosomas más, no identificados (4, 10). El único tripanosoma de Colombia, que no puede ser incluído en el complejo del *T. cruzi*, ni en el complejo *T. rangeli*, es el tripanosoma "CAPS5" hallado por Lambrecht en un *Cebus griseus* F. Cuvier, 1819 [3] (10). En el transcurso de una serie de expediciones destinadas a la búsqueda de tripanosomas en mamíferos colombianos (1962 a 1967), se hallaron tres micos *(C. albifrons)* parasitados por un tripanosoma, similar al reportado por Lambrecht (10).

---

[1] Original entregado a la dirección de la revista en noviembre de 1966.

[2] El *T. ariari* aislado del hombre y triatomineos, en Colombia, por Groot, es considerado por la mayoría de los investigadores como un sinónimo de *T. rangeli*.

[3] *Cebus griseus* F. Cuvier, 1819, mencionado en la publicación de Lambrecht (10), es considerado como sinónimo de *C. albifrons malitiosus* Elliot; *C. albifrons cesarae* Hershkovitz, del norte de Colombia o *C. albifrons unicolor* (Spix), del sur de Colombia.

Este trabajo tiene por objeto estudiar este tripanosoma y establecer un punto de comparación con el ya estudiado por Lambrecht.

Material y métodos:

Entre los años 1962 y 1967, se examinó la sangre de 161 micos pertenecientes a 13 especies diferentes (Tabla I), con el propósito de determinar la presencia de tripanosomas. Los mamíferos se obtuvieron de diversas fuentes: institutos y laboratorios; por capturas en el campo; por compra a comerciantes en animales y de consultorios veterinarios, etc.

Los animales examinados provenían, por lo menos, de nueve departamentos, intendencias o comisarías de Colombia (Tabla I); el origen de algunos micos no pudo ser determinado.

Se examinó la sangre venosa de cada animal en preparaciones de extensión y en gota gruesa, coloreadas con Giemsa. Siempre que fue posible, se usaron métodos de concentración, siembra en medios difásicos de agar-sangre y xenodiagnóstico con ninfas de *Rhodnius prolixus* (4º o 5º estado), según las técnicas descritas en una comunicación ya publicada (11). El contenido intestinal, la hemolinfa y las glándulas salivares de los triatomineos fueron examinados por medio de las técnicas usuales (11). Los medios difásicos usados fueron: NNN, Tobie, Senekjie y Séneca-Wolf; con solución de Locke como líquido de condensación (13). Cuando en los medios de cultivo inoculados se demostró la presencia de flagelados, la parte líquida del medio fue inoculada por vía intraperitoneal en ratones machos CFW de tres semanas de edad. También cuando fue posible se inoculó directamente sangre de los micos en ratones y en otras oportunidades la sangre, antes de ser inoculada, se hemolizó y centrifugó (12, 14). Los ratones inoculados, con algunas excepciones, fueron tratados con cortisona en dosis de 0.2 mg., inyectados intramuscularmente cada dos días, durante los diez primeros días del experimento.

Con el fin de determinar la presencia de tripanosomas en la sangre de los ratones inoculados, se examinaron semanalmente y durante un período de dos meses, muestras de sangre tomadas de la cola de cada animal. Dos meses después de la inoculación, fueron sacrificados el 50% de los ratones, de los cuales se tomó: el hígado, el bazo, corazón, intestino, cerebro y músculo del miembro posterior. Estas muestras fueron fijadas con solución de Bouin. Los cortes histológicos se tiñeron con hematoxilina-eosina y se examinaron para buscar formas leishmanoides. El 50% de los ratones restantes fueron sometidos a una prueba de protección, en la cual se usó una cepa altamente patógena, la cepa Tulahuen de *T. cruzi*. Esta prueba de protección en ratones se hizo de acuerdo con el método descrito por D'Alessandro (1).

Se practicaron dibujos de las formas de tripanosomas hallados con la ayuda de una cámara lúcida. Los tamaños se midieron recorriendo con un compás de puntas, en el dibujo, las distancias pertinentes (2). Los tripanosomas obtenidos por métodos de concentración u observados en gota gruesa no fueron medidos ni dibujados, por las frecuentes deformaciones que se presentan cuando se usan estos métodos. Sin embargo, las preparaciones por medio de estas técnicas fueron incluídas en los recuentos de tripanosomas debido a que las peculiares propiedades tintoriales de los tripanosomas permiten fácilmente su reconocimiento. Los recuentos se hicieron en cámara Thomas.

Resultados:

De los 161 micos (13 especies) examinados para tripanosomas, un alto porcentaje hospedaba flagelados, según una comunicación del autor ya publicada (11). De estos micos, 3 *Cebus albifrons* presentaron infección con tripanosomas diferentes a los que forman los complejos *T. cruzi* y *T. rangeli.*

La frecuencia con que se observaron tripanosomas en sangre de *Cebus albifrons* varió de acuerdo con el método usado para el examen, así: en 212 preparaciones en gota gruesa fueron observados 68 tripanosomas; en 286 extensiones se observaron 24 tripanosomas y en 32 preparaciones hechas a partir de sangre hemolizada y centrifugada se observaron 112 parásitos. La mayor frecuencia de tripanosomas por preparación examinada se observó en aquellas hechas con sangre hemolizada y centrifugada, hasta 5 formas como máximo. En gota gruesa, este número no fue mayor a tres y en las extensiones no mayor a dos. Los recuentos del parásito fueron siempre muy bajos, fluctuando entre 20 y 400 tripanosomas por ml. de sangre. Este tripanosoma desarrolló fácilmente en los medios difásicos de agar-sangre. La multiplicación fue más satisfactoria en medio de Tobie e igualmente exitosa en medios con sangre humana o de conejo. En los medios se desarrollaron la forma leptómona, critidia y ocasionalmente tripanosoma. Prácticamente todas las formas de cultivo fueron cortas, gruesas y de movimientos muy lentos. La multiplicación fue muy despaciosa y nunca se desarrollaron grandes poblaciones del flagelado en los medios de cultivo. Rosetas de leptómonas fueron raras y estaban formadas por un número pequeño de flagelados. No se encontraron cuerpos leishmanoides en las preparaciones histológicas de los ratones inoculados con las formas de cultivo del tripanosoma. La prueba de protección en ratones fue negativa para anticuerpos protectores del *T. cruzi.*

Descripción del tripanosoma aislado de la sangre de micos (Cebus albifrons).

La longitud promedio, incluyendo la porción libre del flagelo, es 34.9 micrones (30.1 — 43.2 micrones). La porción libre del flagelo mide en promedio 11.6 micrones de longitud; los extremos anterior y posterior del cuerpo terminan gradualmente en una punta bastante fina; la membrana ondulante presenta de 4 - 7 ondulaciones. El ancho del cuerpo en la región nuclear es en promedio de 2.5 micrones. En la Tabla II se presentan otras medidas de importancia. El núcleo es pequeño, oval o en forma de banda, ocupa la mayor parte del ancho del cuerpo. El cinetoplasto muy pequeño, se sitúa submarginalmente y presenta forma redonda o arriñonada. En las preparaciones en gota gruesa el cinetoplasto es el doble de grande que el observado en preparaciones por extensiones y el cinetoplasto se localiza cerca al núcleo. La parte anterior del cuerpo que se colorea más intensamente que la parte posterior muestra a menudo gránulos eosinofílicos y una o más vacuolas. Existe una zona clara anterior al núcleo y no se observa constricción marcada del cuerpo en esta región. Otros detalles morfológicos pueden apreciarse en los dibujos (Fig. 1).

Discusión:

El tripanosoma en estudio se asemeja, en muchos aspectos, al tripanosoma polimorfo *T. conorrhini* (10); pero también existen numerosas diferencias entre los dos (Tabla III). El tripanosoma que nos ocupa es morfológicamente diferente de todos los otros tripanosomas descritos de micos, por ejemplo: se diferencia de las formas semejantes al *T. cruzi* por su muy pequeño cinetoplasto y por dar negativa la prueba de protección en ratones. Difiere de todas las formas semejantes al *T. rangeli* por sus particulares propiedades tintoriales y por la presencia de vacuolas y una zona clara anterior al núcleo. Es distinto del *T. rangeli* por no infectar al *Rhodnius prolixus*. Es diferente a todos los tripanosomas que alcanzan su tamaño y que se presentan en mamíferos, por la corta distancia que presenta entre el cinetoplasto y el núcleo. No se hallaron diferencias significativas entre el tripanosoma que se describe y el tripanosoma "CAP5" de Lambrecht. (Tabla II).

El hecho de que el tripanosoma en discusión no sea infectante para *R. prolixus* y su especial comportamiento en medios de cultivo, son características que los asemejan al tripanosoma CAP5. Lambrecht (10), al estudiar su tripanosoma, consideró la posibilidad de que se hallaba en presencia de una forma aberrante o una mutación del *T. conorrhini;*

aunque esta consideración no puede ser negada, el tripanosoma que se describe presenta marcadas diferencias morfobiológicas con el *T. conorrhini*. Este aspecto hace pensar en que se debe considerar este tripanosoma como una especie nueva. En consecuencia, se propone el nombre de *Trypanosoma lambrechti*.

Definición:

Trypanosoma lambrechti n. sp.:

Un tripanosoma de 30.1 - 43.2 micrones (promedio 34.9 micrones) de longitud, incluyendo la porción libre del flagelo con cinetoplasto muy pequeño, sub-marginal y situado cerca al núcleo. Este último es pequeño oval o en forma de banda, con una zona clara vecina. La parte anterior del cuerpo se tiñe más intensamente que la parte posterior, fácilmente cultivable en medio difásico de agar-sangre, pero que nunca alcanza grandes poblaciones y no es infectante para el *Rhodnius prolixus*.

Habitat del tipo y paratipos: Sangre del *Cebus albifrons* [1].
Proveniencia de los huéspedes: Departamento del Magdalena, Colombia.

Resumen:

En un estudio en sangre de micos colombianos, pertenecientes a 13 especies diferentes, 3 de 12 *Cebus albifrons* hospedaban en su sangre periférica un número muy bajo de *Trypanosoma lambrechti* n. sp.

La longitud promedio del tripanosoma, incluyendo la porción libre del flagelo, es 34.9 micrones (30.1 - 43.2 micrones). El cinetoplasto submarginal es muy pequeño y se sitúa en la cercanía del núcleo. El núcleo es pequeño, oval o en forma de banda y ocupa la mayor parte de la anchura del cuerpo. Existe una zona clara anterior del núcleo. La parte anterior del cuerpo se colorea más intensamente que la parte posterior. El tripanosoma no infecta al *Rhodnius prolixus*, pero se multiplica fácilmente en medio difásico de agar-sangre. Se da una tabla de diferenciación entre el nuevo tripanosoma y el polimorfo *T. conorrhini*.

Summary:

Between 1962-1967, 161 colombian monkeys of 13 different species were examined for the presence of blood parasites. In 3 out of 12 *Cebus*

[1] No se identifica la subespecie, debido a que no fue posible conservar las pieles y cráneos de los micos estudiados.

albifrons from northern Colombia *Trypanosoma lambrechti* n. sp. was found. The new trypanosome was scarce in the blood, did not infect *Rhodnius prolixus* nymphs, could easily be maintained in diphasic blood agar media and grow slowly in those artificial media.

The trypanosomes measure 30.1 - 43.2 microns (average 34.9 microns), the free flagellum measures 8.0 - 14.6 microns and the very small submarginal cinetoblast is situated near to the oval or bandshaped nucleus, which occupies the whole width of the trypanosome body at that side. Immediately anterior to the nucleus exists a clear space. The anterior part of the trypanosome stains much more intense than the posterior part. The trypanosome shows vacuoles and volutin granules. Differential details are given between the polymorphic *T. conorrhini* and *T. lambrechti* n. sp.

Agradecimientos:

Se agradece a las numerosas personas que aportaron su valiosa cooperación en el transcurso de este trabajo. Al profesor G. Montaño (Universidad Nacional, Bogotá, Colombia), al profesor E. Rodríguez (Universidad de Cartagena, Colombia) y al profesor J. Hernández (Universidad Nacional, Bogotá, Colombia), les manifiesto sinceros agradecimientos por la lectura del manuscrito y valiosas observaciones.

BIBLIOGRAFIA

1. D'Alessandro, A.

1963. The life cycle of *Trypanosoma rangeli* in triatomid bugs as it occurs in nature. Bull. Tulane med. Fac. *23* (1): 21 - 30.

2. Davis, B. S.

1952. Studies on the trypanosomes of some California mammals. Univ. Calif. Publ. Zool. *57* (3): 145 - 250.

3. Deane, L. M. & R. Martins.

1952. Sôbre um tripanosoma encontrado em macaco da Amazônia e que evolui em triatomideos. Rev. brasil. Malar. doenças trop. *4*: 47 - 61.

4. Dunn, F. L.; Lambrecht, F. L. & R. du Plessis.

1963. Trypanosomes of South American Monkeys and marmosets. Amer. J. trop. Med. Hyg. *12* (4): 524 - 534.

5. Floch, H. & E. Abonnenc.

1942. Trypanosomes évoluant dans le tube digestif de *Rhodnius prolixus*. Inst. Pasteur Guayane et Terr. Inini, Publ. 54.

6. FLOCH, H. & E. ABONNENC.

1948. Trypanosomes de *D. marsupiales* dont les formes métacycliques chez *R. prolixus* et *T. rubrofasciata* ressemblent à celles de *T. mymacophague*. Inst. Pasteur Guayane et Terr. Inini, Publ. 171.

7. FLOCH, H. & E. ABONNENC.

1949a. Sur un trypanosome et un schizotrypanosome de singe évoluant chez les triatomides et inoculable aux animaux de laboratoire; leurs rapports avec *T. rangeli* Tejera, 1920. Inst. Pasteur Guayane et Terr. Inini, Publ. 187.

8. FLOCH, H. & E. ABONNENC.

1949b. Trypanosomes des mammifères sylvestres, autres que *S. cruzi* en Guayane française. Inst. Pasteur Guayane e Terr. Inini, Publ. 193.

9. GROOT, H.; RENJIFO S.; S. & C. URIBE.

1951. *Trypanosoma ariari* n. sp. from man found in Colombia. Amer. J. trop. Med. *31:* 585-592.

10. LAMBRECHT, F. L.

1965. An unusual trypanosome in *Cebus griseus* F. Cuvier, 1819, from Colombia, South America. Rev. Inst. Med. trop. (São Paulo). *7* (2): 89-98.

11. MARINKELLE, C. J.

1966. Observations on human, monkey and bat trypanosomes and their vectors in Colombia. Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. *60* (1): 109-116.

12. PAUMGARTEN D., M. & E. KIRCHNER.

1962. Método simple de enriquecimiento para evidenciar tripanosomas no sangue. Rev. Inst. Med. trop. (São Paulo). *4* (6): 407-408.

13. TOBIE, E. J.

1964. Cultivation of mammalian trypanosomes. J. Protozool. *11* (3): 418-423.

14. YAEGER, G. R.

1960. A method of isolating trypanosomes from blood. J. Parasit. *46* (3): 288.

TABLA I

PROVENIENCIA DE LOS MICOS EXAMINADOS PARA TRIPANOSOMAS COLOMBIA 1962 — 1967

ESPECIES	NÚMERO	ZONA GEOGRÁFICA [1]	
Aotus trivirgatus (Humboldt)	8	Magdalena	(6)
		Meta	(2)
Alouatta seniculus (L.)	2	Magdalena	(1)
		?[2]	(1)
Callicebus moloch ssp.	1	Putumayo	(1)
C. moloch ornatus (Gray)	2	Meta	(2)
Cebus capucinus (L.)	23	?	(23)
C. albifrons (Humboldt)	12	Antioquia	(2)
		Magdalena	(4)
		?	(6)
C. apella (L.)	18	?	(18)
Saimiri sciureus (L.)	39	"Antioquia" ?	(2)
		Meta	(19)
		Amazonas	(4)
		?	(14)
Ateles geoffroyi Kuhl	1	Antioquia	(1)
A. belzebuth Geoffroy	1	Magdalena	(1)
A. fusciceps Gray	12	Antioquia	(5)
		?	(7)
L. lagothricha (Humboldt)	13	Tolima	(1)
		Meta	(2)
		Amazonas	(4)
		?	(6)
Saguinus leucopus (Günther)	8	Antioquia	(6)
		Caldas	(2)
S. oedipus (L.)	21	Antioquia	(8)
		Bolívar	(4)
		?	(9)

[1] Por Departamentos, Intendencias y Comisarías.

[2] Proveniencia desconocida.

TABLA II

MEDIDAS DEL *TRYPANOSOMA LAMBRECHTI* N. SP.[1]

	Min. - Max. (Micrones)	Promedio (Micrones)	Número de tripanosomas medidos
Longitud total (incluyendo flagelo libre)	30.1 - 43.2 (42 - 57)[2]	34.9 (50.9)	20
Longitud de la porción libre del flagelo.	8.0 - 14.6 (11 - 17)	11.6 (13.2)	20
Distancia desde el extremo posterior hasta el centro del cinetoplasto: A. ...	4.1 - 8.3	6.0	24
Distancia desde el centro del cinetoplasto hasta el centro del núcleo: B ...	2.0 - 4.2	3.0	24
Distancia desde el centro del núcleo hasta el extremo anterior: C	10.0 - 17.5 (16 - 29)	13.9 (23.7)	24
Ancho del cuerpo en el sitio del núcleo: D	1.5 - 3.1 (3 - 6.5)	2.5 (4.0)	22
Longitud del núcleo	3.2 - 1.8	2.5	22
Ancho del núcleo	1.2 - 2.4	2.1	22
Indice nuclear $\frac{A+B}{C}$ [3]	0.61 - 0.71	0.65 (0.60)	24
Indice cinetoplástico $\frac{A}{B}$	1.91 - 2.23	2.01 (1.54)	24

[1] Para este estudio el tripanosoma fue observado en extensiones de sangre.

[2] Entre paréntesis son colocadas las dimensiones del tripanosoma CAP 5 de Lambrecht, observadas en extensiones de sangre (10).

[3] Debido a que el índice nuclear y el índice cinetoplástico han sido calculados de modos diferentes por distintos autores, se dan varias distancias, con el fin de facilitar la comparación de los datos aportados con los aparecidos en otras publicaciones.

TABLA III

DIFERENCIAS ENTRE *T. LAMBRECHTI* N. SP. Y *T. CONORRHINI*

	T. lambrechti n. sp.	*T. conorrhini*
Huésped:	Micos, *Cebus albifrons* (Colombia)	Ratas (Brasil, Java) Triatominae (Brasil, Guayana)
Cultivos:		
Tiempo de crecimiento	lento	rápido.
Población al máximo	pequeña	grande.
Rosetas de leptómonas formadas por leptómonas y critidias	5 a 18 leptómonas, cortas y gruesas, monomorfas.	6 a 48 leptómonas, en general delgadas, polimorfas.
Formas de tripanosoma	escasas	frecuentes.
Movimiento de los flagelados	lento	activo.
Inoculación en ratones	—	±
Tripanosoma en sangre:		
Longitud total (incluyendo flagelo libre)	30.1 - 43.2 micrones	23 - 50 micrones.
Núcleo	forma de banda y a menudo toca ambos lados del cuerpo	redonda, nunca toca ambos lados del cuerpo.
Membrana ondulante	marginal	frecuentemente cruza el cuerpo.
Porción libre del flagelo.	extremo terminal en punta	extremo terminal en forma de raqueta.
Cuerpo parabasal	no diferenciado	usualmente bien diferenciado.
Desarrollo en *Rhodnius prolixus*	negativo	positivo.

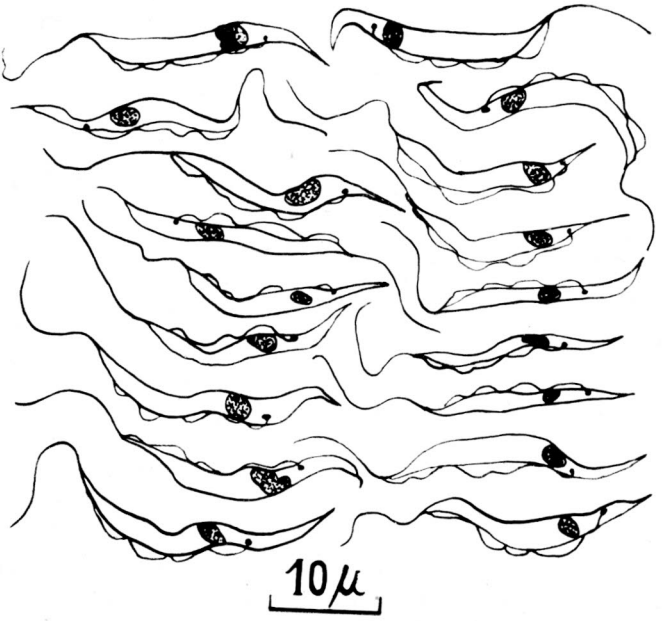

Fig. 1. — Dibujos de *Trypanosoma lambrechti* n. sp.